

## 総括研究報告書

課題番号：27-6

課題名：重症小児感染症の診断・治療の開発と最適化

主任研究者名（所属施設） 国立成育医療研究センター  
（所属・職名） 生体防御系内科部感染症科 医長

（研究成果の要約）小児重症感染症における診断と治療の開発を目的に多施設共同研究を行った。一般的な感染症診断法では原因が明らかにならなかった重症小児患者に対して、分子生物学的手法を用いた診断を行った。マルチプレックス PCR を用いた検討では、重症小児呼吸器感染症例の約4割が診断に至った。また乳児期早期に敗血症をきたすエンテロウイルスとヒトパレコウイルスに比較を行い、臨床的な鑑別に有用なスコアリングシステムを開発した。リアルタイム PCR を用いても原因が明らかでない感染症症例に対してメタゲノム解析を導入する事で想定外の病原体診断が可能であった。検体処理法を検討し、メタゲノム解析の感度や特異度を改善させた。重症感染症に対する抗微生物薬の投与設計の最適化に関する研究では新生児単純ヘルペスウイルス感染症におけるアシクロビルの薬理動態の検討を行った。

### 1. 研究目的

本研究の目的は診断や治療が確立していない小児重症感染症における診断と治療の開発である。予防接種の普及や抗微生物薬の開発により一般小児における感染症予後は劇的に改善した。しかし、高度先進医療の現場においては、原因不明の呼吸不全・脳症・敗血症症例や有効な治療法が開発されていないウイルス性疾患などが存在する。また人工心肺治療や腎代替療法を伴う集中治療の現場では最適な抗微生物薬の投与設計が感染症予後に直結する。

本研究班では重症患者が集約される国内最大級の小児病院と大学病院を臨床の基盤とし、各施設において分子生物学的手法（リアルタイム PCR）を用いた診断を応用することで小児の重症感染症を診断することを目的とした。特に原因微生物が明らかになりにくい呼吸器感染症と中枢神経系感染症に着目し検討を行っている。

その一方で特定の病原体を想起し検討を行

うリアルタイム PCR 法は、想定外の病原体を診断し得ない。またターゲットとする病原体の核酸増幅領域に変異があった場合は、診断することが困難である。過去の検討から、複数の病原体をターゲットにリアルタイム PCR 検査を行った場合でも、小児感染症の診断率は50%に満たないことが判明している。今回我々は、近年急速に発展した次世代シーケンス技術による網羅的遺伝情報解析（メタゲノミック診断法）を小児感染症に対して適用し、従来の方法論では見逃されていた小児感染症の原因を明らかにすることを目標にした。

正確な診断をつける目的は治療の最適化である。しかしながら、小児感染症領域では明確な診断に至っても、治療法が存在しない場合や治療法が存在しても小児における抗微生物薬の投与設計が確立していない為治療予後が不良の場合がある。特に小児 ICU における重症感染症の治療では適切な抗微生物薬の体内濃度を保つことが治療の成否に大きく影響

する。ICU では人工心肺などの導入による循環血液量の増加、腎代替療法による薬剤排泄動態の変化がおり予測が困難である。当研究班ではアシクロビルの実測値を用いて、人工透析下の重症患者群における PK を明らかにした。

## 2. 研究組織

研究者	所属施設
宮入 烈	国立成育医療研究センター
中村昇太	大阪大学微生物病研究所
齋藤昭彦	新潟大学医学部小児科
堀越裕歩	都立小児総合医療センター
石川洋一	国立成育医療研究センター

## 3. 研究成果

本年度の研究は、下記2つの軸に沿って実施された。(1)原因不明の小児重症感染症に対する分子生物学的手法を用いた診断法の応用。(2)重症感染症に対する抗微生物薬の投与設計の最適化に関する研究。

(1)原因不明の小児重症感染症に対する分子生物学的手法を用いた診断法の応用により複数の成果が得られた。

イ)重症小児呼吸器感染症について2施設における検討により、それぞれの施設で約40-50%の患者で病原体診断に至っている。検出頻度が最も高かったのはライノウイルス、RSウイルス、ヒトメタニューモウイルス、インフルエンザ、パラインフルエンザウイルス3型で、市中における流行状況を反映していた。

(宮入・堀越)

ロ)国立成育医療研究センター：16検体

(気道吸引物由来核酸2、喀痰由来核酸1、腸管生検由来核酸1、胸部膿由来核酸1、血清1、腹水1、心嚢水1)、新潟大学：10検体(血清10)、東京都立小児総合医療センター：8検体(血清8)。

胸部膿由来核酸から、*Streptococcus pneumoniae* を、喀痰及び気道吸引物由来核酸より、EBVを検出した。また、院内での培養

により検出された細菌類はメタゲノム解析においても検出された。

検体処理法の改良により、検出が困難であったRNAウイルスの検出感度が向上した。具体的にはインフルエンザ陽性検体に対しDNase処理を施すことにより、検出効率が5~300倍向上した。さらに、DNase処理を施したサンプルにおいても、共感染しているバクテリアを、DNase非処理と同程度検出可能であることを見出した。

次世代シーケンサーの改良により高深度の配列決定が可能となった。HiSeq2500で取得できるリードでは、KI/WUポリオーマウイルスはそれぞれ、ゲノム全長の44%、16%についての配列情報しか得られなかったのに対し、HiSeq3000から得られたリードでは、両ウイルスとも全ゲノム配列が構築できた。

(宮入・中村)

ハ)新生児・早期乳児に敗血症をきたすエンテロウイルスとヒトパレコウイルス3型(HPeV)感染症の比較により、これらの病原体を臨床的に鑑別するスコアリングシステムを開発した。

(齋藤)

(2)新生児ヘルペス感染症に罹患し腎不全状態にあり人工透析を行っている患者におけるアシクロビルの薬物動態を解析した。人工透析によりアシクロビルが除去されている事、それに対応した投与設計が必要であることが確認された。(石川)

## 4. 研究内容の倫理面への配慮

今回申請した研究においては、ヘルシンキ宣言を尊重し計画するとともに、対象患者個人のプライバシーをはじめとする人権擁護を最優先とし、説明と理解(インフォームドコンセント)を徹底した。各検討は倫理委員会の承認のもと実施された。